

Aus dem Senckenbergischen Pathologischen Institut der Universität
Frankfurt am Main
(Direktor: Prof. Dr. W. Rotter)

Über die Vulnerabilität des Kaninchenohres gegen eine temporäre Ischaemie

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

der gesamten Medizin

der

hohen Medizinischen Fakultät

der

Johann - Wolfgang - Goethe - Universität

zu Frankfurt am Main

vorgelegt von

Volker Unbehaun

aus Gießen

Frankfurt/M. 1962



Aus dem Senckenbergischen Pathologischen Institut der Universität
Frankfurt am Main
(Direktor: Prof. Dr. W. Rotter)

Über die Vulnerabilität des Kaninchenohres
gegen eine temporäre Ischaemie

=====

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
zur
Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Johann Wolfgang Goethe Universität
zu Frankfurt am Main

vorgelegt von
Volker Unbehauen
aus Gießen
Frankfurt/M. 1962



Dekan: Professor Dr. H e r z b e r g
Referent: Professor Dr. R o t t e r
Korreferent: Professor Dr. F i s c h e r

Mündliche Prüfung: 1. August 1962

Nach einer vorübergehenden Unterbrechung der Blutzirkulation (temporäre Ischämie) entwickelt sich eine "postischämische" Schwellung. Sie geht mit einer Zellschwellung (Kern und Cytoplasma) und - nach länger anhaltender Ischämie - mit einem eiweißreichen, im interstitiellen extrazellulären Raum gelegenen Oedem einher. Die Stärke der Schwellung und die Zeit, die bis zu ihrer Rückbildung vergeht, die sog. Erholungszeit, sind abhängig von der Dauer der temporären (temp.) Ischämie und von der Vulnerabilität der Struktur. Das Ausmaß der Vulnerabilität wiederum wird in erster Linie von der Höhe des Stoffwechsels und damit indirekt u.a. von der Höhe der Temperatur bestimmt.

Zahlreiche Autoren haben den ganzen Körper oder Körperteile, Organe oder Gewebe unterkühlt oder überwärmt und die unter diesen Bedingungen veränderte Vulnerabilität gegen eine Ischämie untersucht. Unter anderem sind derartige Experimente auch am Kaninchenohr (POCHIN) durchgeführt worden.

Unserem Arbeitskreis war aufgefallen, daß die Vulnerabilität des Kaninchenohres gegen eine temporäre Ischämie im Vergleich zu anderen Körperteilen, z.B. den unteren Extremitäten, auffallend gering zu sein schien.

Da exakte quantitative Untersuchungen darüber fehlen, haben wir nach Methoden gesucht, diese Lücke zu schließen. Zugleich haben wir uns bemüht, die Ursache für diese unterschiedliche Vulnerabilität zu finden.

Eigene Untersuchungen

Methodik

Alle Experimente wurden an gleichaltrigen (7 - 10 Monate), 2000 - 2500 g schweren Kaninchen beiderlei Geschlechts ausgeführt. Vor dem Versuch Enthaarung der Ohren auf der Innen- und Außenseite.

Die Ischämie erzeugten wir a) mit einer Klemme aus zwei geraden 10 cm langen, 1 cm breiten, 6 mm dicken Plexiglasplatten, deren Enden durchbohrt waren; mit Hilfe von Flügelschrauben wurden die Platten einander genähert und mit Kontramuttern fixiert; die Klemme wurde so angelegt, daß das distale Drittel des Ohres der temp. Ischämie ausgesetzt war; - oder b) Abklemmung nach der von POCHIN angegebenen Methode: Einlegen eines Gummistopfens in die Ohrwölbung, das Ohr wird über dem Stopfen geglättet und mit einem breiten Gummiband mehrfach umwickelt.

Am enthaarten Kaninchenohr läßt sich, zumal bei Lupenbetrachtung im durchfallenden Licht, die Füllung der Arterien und Venen gut beobachten. Zur Kontrolle auf vollständige Unterbindung der Blutzirkulation bei angelegter Klemme dienten folgende Betrachtungen: a) rückläufige Füllung der vorher ausgestrichenen Zentralarterie, b) cyanotische Verfärbung der distal von der Klemme gelegenen Blutsäule, c) Schwinden des Pulses, d) Absinken der Temperatur, e) keine venöse Stauung.

Das Befinden der Tiere wird durch die Ligatur nicht merkbar beeinträchtigt.

Die Temperatur der Kaninchenohren haben wir mit einem NTC-Halbleiterwiderstand gemessen. Den Widerstand hatten wir in den einen Schenkel einer Plexiglasklammer einbauen lassen. Eine Feder hielt beide Klammerschenkel in Spannung. Die Spannung ließ sich mit einer verstellbaren Schraube so einstellen, daß der in den einen Klammerschenkel eingebettete Widerstand sanft auf die Oberfläche des Ohres gedrückt, eine Quetschung jedoch vermieden wurde. Der Widerstand berührte also die Hautoberfläche mit seiner einen Kante unmittelbar, im übrigen wurde er von dem ihn gegen die Umgebung isolierenden Plexiglas der Klammer umhüllt. Gemessen wurden die Stromschwankungen über eine Wheatstone'sche Brücke auf einem Milliampereometer. Die Höhe der Temperatur wurde von einer gegen ein Wasserbad bekannter Temperatur ermittelten Eichkurve abgelesen. Gemessen wurde die Temperatur stets beider Ohren und zwar sowohl an der Basis (bei Abklemmung unmittelbar distal der Klemme), als auch an der Spitze. Die Messungen führten wir an 15 Kaninchen durch. Zunächst wurden die spontanen Temperaturschwankungen 10 Tage lang laufend kontrolliert. Dann klemmten wir das rechte Ohr nach der Methode b) 2 Stunden lang ab. Die Temperatur wurde jeweils vor der Abklemmung - 1, 5; 10 und 15 min. nach der Abklemmung und 30 sec., 1, 5, und 10 min. nach Lösung der Klemme gemessen. Zwischen den Messungen laufende Kontrolle der Umgebungstemperatur. Die Tiere befanden sich während des Experimentes in einem zugluftfreien geheizten Raum mit konstanter Temperatur um + 25 Grad C.

Messung der Ohrdicke mit einem auf 0,1 mm geeichten Taster-Zirkel. Seine Schenkelenden waren mit Kunst-

stoffstopfen armiert, um eine breitere Auftrittsfläche zu schaffen. Die Dicke des Ohres wurde ausgedrückt durch einen Durchschnittswert aus mehreren an verschiedenen Meßpunkten ermittelten Dickenmaßen. Fixierung der Meßpunkte nach der in der Ohrmitte längs verlaufenden Zentralarterie, die sich im distalen Drittel in je einen bogenförmig zum vorderen und hinteren Ohrrand verlaufenden Ast gabelt. Annahme einer durch diese Gabelung verlaufenden, auf der Längsachse des Ohres senkrecht stehenden Linie. Dann lag der erste Meßpunkt auf dieser Linie im vorderen Ohrrand, der zweite an der Gabelung der Arterie, der dritte am hinteren Ohrrand auf dieser Linie, der vierte auf der Längsachse an der Ohrspitze. Diese Festlegung der Meßpunkte nach topographischen Verhältnissen schien uns besser als nach Zentimeterabständen (POCHIN), da allein die Bezugnahme auf die konstante anatomische Gliederung des Ohres den Vergleich der Meßwerte bei mäßig unterschiedlich großen Ohren ermöglicht.

Bei dieser Versuchsgruppe wurde jeweils eines der beiden enthaarten Ohren, deren durchschnittliche normale Dicke in den vorausgegangenen Tagen durch zahlreiche Messungen zu verschiedenen Tageszeiten ermittelt worden war, nach der Methode a) abgeklemmt. Nach Lösen der Abklemmung wurde die Dicke beider Ohren in der beschriebenen Weise bei Zimmertemperatur fortlaufend in regelmäßigen, miteinander vergleichbaren Zeitabständen gemessen (vgl. Tab. 2 und Abb. 2). Das nicht abgeklemmte Ohr lieferte jeweils die Vergleichs- und Kontrollwerte. Nach 3-4 Wochen wurde dann auch dieses Ohr abgeklemmt. Als Vergleichswerte dienten die bei dem ersten Versuch ermittelten Meßwerte.

Kernmessungen am Granulationsgewebe: Bei 13 Kaninchen (2,5 - 3,8 kg) wurde an der Innenseite der Ohren beiderseits 0,1 ccm einer 1 %igen Crotonöllösung subcutan injiziert. Im Anschluß an die Injektion entwickelte sich ein Granulationsgewebe nach Art der sog. Granulomtasche nach SELYE. Die Entwicklungsstadien dieses Granulationsgewebes wurden bis zum 9. Tag untersucht (4 Tiere) und die Kerne der Fibroblasten gemessen. Bei 9 Tieren wurde am 4. Tage nach der Ölinjektion an den Ohren herzwärts von der Ölcyste nach der Methode a) eine temp. Ischämie für 2, 3 oder 4 Stunden Dauer erzeugt. Getötet wurden diese Tiere durch Nackenschlag und anschließende Entblutung am 5., 7. oder 9. Tage nach der Ölinjektion. Fixation des sofort nach dem Tode entnommenen Granulationsgewebes in neutralem 10 %igem Formalin; Paraffineinbettung. Färbung der Schnitte mit Hämatoxylin-Eosin und nach GOLDNER, Silberfibrillendarstellung nach GOMORI. Bei jedem Tier wurden mit dem LEITZ'schen Okularmikrometer 200 Fibroblastenkerne ausgemessen und die Kernvolumina nach der Ellipsoidformel $V = \frac{4}{3} a b c$ berechnet, indem der Querdurchmesser $b = c$ gesetzt wurde.

E r g e b n i s s e

1.) Temperaturmessungen am Kaninchenohr

Bei einer Umgebungstemperatur von $21,2^{\circ} \text{C}$ fanden wir bei 180 Einzelmessungen an 5 Kaninchen an der Ohrspitze eine durchschnittliche Temperatur von $28-29^{\circ} \text{C}$, an seiner Basis von $30-31^{\circ} \text{C}$.

Die temporäre Ischaemie erzeugten wir am Kaninchenohr bei einer Raumtemperatur von durchschnittlich $25,6^{\circ} \pm 1,6^{\circ} \text{C}$. Die Durchschnittswerte von 560 Tem-

peraturmessungen an 15 Kaninchen geben die Tab. 1 und Abb. 1 wieder.

Bei dieser Umgebungstemperatur betrug die Temperatur der Ohren bei Versuchsbeginn an der Basis 32° C, an der Spitze 30° C. (Tab. 1 und Abb. 1). Sofort nach Anlegen der Klemme beginnt die Temperatur abzusinken. Nach 10 Minuten nähert sie sich der Temperatur der umgebenden Luft. Dabei verringert sich der Temperaturunterschied zwischen Ohrspitze und Ohrbasis. Währenddessen ist am anderen, nicht abgeklemmten Ohr die Temperatur leicht erhöht, 10 Minuten nach Anlegen der Klemme der Ausgangswert jedoch fast wieder erreicht. Wir ließen die Klemme 2 Stunden liegen. Nach ihrer Abnahme, d.h. nach erfolgter Wiederdurchblutung, steigt die Temperatur des Ohres sofort wieder steil an (reaktive Hyperaemie). Nach weiteren 5 Minuten ganz allmählicher Temperaturabfall. 10 Minuten nach Wiederherstellung der Durchblutung stellten wir die Temperaturmessungen ein. Es sei aber betont, daß die reaktive Hyperaemie noch eine Weile anhielt. Auch das nicht abgeklemmte Ohr zeigte im Gefolge der konsensuellen reaktiven Hypenaemie einen deutlichen, wenngleich geringeren Temperaturanstieg, der sich auch etwas früher zurückbildete als auf der abgeklemmten Seite.

2.) Messung der Ohrdicke

Zunächst haben wir bei 15 unbehandelten Kaninchen die Ohrdicke 10 Tage lang wiederholt gemessen. Die Werte streuten mit etwa $7,18 \pm 1,04$ % um einen Mittelwert.

Das Ergebnis unserer im Anschluß an eine temporäre Ischaemie von 1, 2, 4-6 oder 10 Stunden durchgeführten

Tabelle 1: Temperaturmessungen am abgeklemmten Kaninchenohr
(Mittelwerte aus 560 Einzelmessungen an 15 Kaninchen)

Zeit	abgeklemmtes Ohr'		unbehandeltes Ohr		Umgebung
	distal	proximal	distal	proximal	
vor Versuchsbeginn					
1 min	30,9 ± 1,7	32,6 ± 2,3	31,3 ± 2,1	32,9 ± 1,4	25,6 ± 1,6
5 min	28,6 ± 2,0	29,0 ± 1,9	32,8 ± 2,7	34,1 ± 1,8	
10 min	26,7 ± 1,8	27,1 ± 3,4	32,1 ± 2,7	34,1 ± 1,9	
15 min	25,6 ± 1,9	26,1 ± 2,0	31,9 ± 2,2	33,5 ± 1,8	
	25,3 ± 1,8	25,7 ± 3,4	31,4 ± 2,8	33,4 ± 2,1	
Wiederdurchblutung nach Entfernung der Klemme					
30 sec	32,5 ± 2,4	33,9 ± 1,8	33,3 ± 2,4	34,7 ± 1,0	
1 min	34,5 ± 2,1	35,8 ± 2,9	34,4 ± 2,3	35,4 ± 1,5	
5 min	34,5 ± 1,1	35,7 ± 1,1	34,0 ± 2,1	35,1 ± 2,9	
10 min	33,6 ± 2,1	35,4 ± 1,6	32,7 ± 2,0	34,1 ± 1,7	

Messungen haben wir in Tab. 2 und Abb. 2 eingetragen. Die Werte geben jeweils an, um wieviel % das Ohr gegenüber dem vor Versuchsbeginn gemessenen Ausgangswert an Dicke zugenommen hat. Wir beschränken uns darauf, jeweils die Mittelwerte einer größeren Zahl von Messungen wiederzugeben, die wir jeweils an 6-9 (nach 10 Stunden temp. Ischaemie nur an 2) Versuchstieren (Tab. 2) durchgeführt haben.

Nach Lösen der Abklemmung ist das Gewebe im unmittelbaren Klemmbereich blaß, distal bläulich-livide, proximal hellrot hyperämisch mit deutlicher verstärkter Gefäßzeichnung und -füllung. Die Zentralarterie ist unmittelbar nach Abnahme der Klemme im Klemmbereich kontrahiert. Nach 5-10 Sekunden ist sie dilatiert, das Blut schießt jetzt in den distalen Ohrteil ein. Pulsation deutlich tastbar. Die großen Venen am vorderen und hinteren Ohrrand sind im Klemmbereich zunächst noch undurchgängig, das Blut staut sich einige Sekunden. Nach etwa 10-20 Sekunden ist die Zirkulation in den Venen wieder hergestellt. Das gesamte Ohr, insbesondere aber der distale Ohrteil, der abgeklemmt war, ist jetzt stark hyperämisch. Alle Gefäße stellen sich als stark gefülltes, scharf gezeichnetes Netzwerk dar.

Nach 1 Stunde temp. Ischaemie bleibt die Dickenzunahme des Ohres noch im Bereich der normalen Streubreite, nach 2 Stunden temp. Ischaemie ist sie jedoch bereits nach 30 min. signifikant.

Schon etwa 15-20 min. nach Lösen der Klemme beginnen in dem der Ischaemie ausgesetzten Bereich die Konturen der Zentralarterie von proximal nach distal fortschreitend unscharf zu werden, anschließend auch

Tabelle 2: Dickenzunahme des abgeklemmten Kaninchenohres in %
der ursprünglichen Dicke

Dauer der t. Ischaemie	Zahl der Tiere	30 '	1 Std.	2 Std.	3 Std.	7 Std.	18 Std.	24 Std.
1 Std.	6	6,3	3,0	4,7	9,7	-	3,2	2,5
2 Std.	9	44	46,2	45	54,7	45,6	29,8	23,7
4-6 Std.	8	58,7	71,6	79,6	91,5	97	80,5	64
10 Std.	2	49,5	68,5	103	120,5	101,5	98,5	99,5

die der übrigen Gefäße. Die zunächst klare Gefäßzeichnung wird bei zunehmender Dickenzunahme des Ohres verwaschen und trübe. Die Schwellung breitet sich in der Folgezeit auch auf das proximal von der Abklemmung gelegene Ohrgewebe aus, einen Bezirk also, der nicht der temp. Ischaemie ausgesetzt war.

Nach 3 Stunden Man.-Zeit hat die Schwellung mit + 55 % der ursprünglichen Dicke ihr Maximum erreicht. Zunehmende Abschwellung auf 24 % nach 24 Stunden. Nach 4 - 6 Stunden temp. Ischaemie schwillt das Ohr innerhalb von 3 Stunden um + 90 % seiner ursprünglichen Dicke an. Nach 24 Stunden beträgt die Dickenzunahme nur noch + 60 %. Nach 10 Stunden temp. Ischaemie beginnt sofort nach Lösen der Abklemmung das Ohr rasch zu schwellen. Nach 3 Stunden ist das Maximum der Schwellung mit 220 % der ursprünglichen Dicke erreicht, nach 24 Stunden mit noch mehr als 190 % kaum abgeklungen.

3.) Kernmessungen

a) Kernmessungen am unbeeinflussten Granulationsgewebe des Kaninchenohres

Im Anschluß an die Injektion von Crotonoel entwickelt sich ein an Fibroblasten reiches Granulationsgewebe (SELYE), dessen Differenzierung WALTHER am Meerschweinchenohrschenkel eingehend beschrieben hat. Seine Befunde konnten wir am Kaninchenohr bestätigen, so daß eine erneute Beschreibung sich erübrigt. Nur kurz sei erwähnt, daß die Fibroblasten mehr und mehr Fasern bilden, bis ein Narbenstadium erreicht ist. Mit zunehmender Differenzierung des Granulationsgewebes werden die Kerne der Fibroblasten immer kleiner.

Tabelle 3: E r g e b n i s s e der Kernmessungen

Verteilungskurve in %

Tag	a.	b.	c.	d.	0- 200	200- 600	600- 1000	1000- 1400	1400- 1800	1800- 2200	2200- 2600	2600- 3000	3000- 3400
4	-	850	-	-	0,5	28,5	41,0	20,5	7,0	1,5	1,0	-	-
5	-	711	-	-	-	39,0	47,5	10,5	2,5	0,5	-	-	-
5	2	1077	51,4	-	-	8,5	43,0	29,5	12,5	5,0	1,0	0,5	-
5	3	1349	89,7	-	-	2,0	26,0	36,5	17,0	9,5	5,5	3,0	0,5
5	4	1521	112,5	-	-	2,0	18,5	31,0	28,5	14,0	3,5	1,0	1,5
7	-	602	-	-15,4	0,5	54,0	40,5	4,5	0,5	-	-	-	-
7	2	854	41,8	-20,8	0,5	29,0	40,5	20,5	7,0	1,5	0,5	0,5	-
7	3	999	65,9	-26,0	-	11,0	45,0	30,5	9,0	4,5	0,5	-	-
7	4	1263	109,8	-17,0	-	9,5	30,5	26,5	22,5	8,5	2,5	-	-
9	-	484	-	-32,0	1,5	79,0	18,5	1,0	-	-	-	-	-
9	2	461	normal	-57,2	2,0	79,0	18,0	1,0	-	-	-	-	-
9	3	561	11,7	-58,5	-	76,0	21,0	3,0	-	-	-	-	-
9	4	1112	129,8	-26,9	-	8,5	36,0	34,0	12,5	5,5	3,5	-	-

a.) Dauer der Ischaemie

c.) Kernschwellung in %

b.) Durchschnittliches Kernvolumen

d.) Abnahme der Kernschwellung

Am 4. Tag nach der Crotonoelinjektion fanden wir ein Durchschnittsvolumen der Fibroblastenkerne von $850 \mu^3$ bei einer Schwankungsbreite von $200 \mu^3$ bis $2600 \mu^3$ (Tab. 3 Abb. 3). Die Mehrheit der Kerne ist zwischen $600 \mu^3$ und $1000 \mu^3$ groß. Mit zunehmendem Alter des Granulationsgewebes werden die Fibroblastenkerne stetig kleiner und haben am 9. Tage ein "Endvolumen" von ca $500 \mu^3$ erreicht. Die Verteilungskurve (Abb. 3 a) zeigt eine vom 5. bis 9. Tage stetig fortschreitende "Linksverschiebung" der Kernvolumina. Tab. 4 und die "Normalkurve" (Abb. 3 b) lassen erkennen, daß die Abschwellung der Kerne nicht linear erfolgt. Im Vergleich zum 5. Tag haben die Kerne am 7. Tag um 15,4 % und am 9. Tag um 32,0 % an Masse verloren.

b) Kernmessungen an den Fibroblasten des Granulationsgewebes nach vorausgegangener temporärer Ischaemie von 2, 3 und 4 Stunden am 4. Tage nach der Ölinjektion.

Bei einer weiteren Gruppe von Kaninchen klemmten wir das Ohr herzwärts vom Granulom 2, 3 und 4 Stunden ab. Die das Granulom erzeugende Crotonoelinjektion hatten wir 4 Tage vorher vorgenommen. Getötet wurden die Tiere 5, 7 oder 9 Tage nach der Ölinjektion bzw. 1, 3 oder 5 Tage nach der temp. Ischaemie.

Tab. 4 und Abb. 4-6 zeigen, daß es nach einer temp. Ischaemie von 2 Stunden am folgenden Tage zu einer Kernschwellung mit einem Durchschnittswert von $1077 \mu^3$ gekommen ist; dies bedeutet eine Zunahme der Kernmasse gegenüber der Norm von 51,4 %. Die kernabschwellung erfolgt relativ schnell. Am 7. Tage liegen die Werte der kernvolumina nur noch 41,8 % über der Norm und bereits am 9. Tage sind die Normalwerte erreicht. Die größten Kernvolumina fanden sich am 5. Tage

mit $3000/\mu^3$.

Nach einer temp. Ischaemie von 3 Stunden kommt es im Granulationsgewebe zu einer durchschnittlichen Kernschwellung der Fibroblasten nach einträgiger Manifestationszeit von $1349/\mu^3$. Dies bedeutet eine Zunahme der Kernmasse um 89,7 % (Tab. 4 und Abb. 4-8). Die Kerne schwellen rasch ab. So haben die Kerne gegenüber dem 5. Tage am 7. Tage um 26,0% und am 9. Tage um 58,5 % an Masse verloren, sodaß am 9. Tag mit einem Durchschnittsvolumen von $561/\mu^3$ nahezu normale Werte erreicht sind. Kerntrümmer lassen sich im histologischen Schnitt nicht erkennen. Vereinzelt wurden am 5. Tage Kerne mit einem Volumen von $3400/\mu^3$ gemessen.

Einer temp. Ischaemie von 4 Stunden folgt nach einem Tag Manifestationszeit eine Kernschwellung der Fibroblasten von durchschnittlich $1521/\mu^3$, was eine Zunahme der Kernmasse gegenüber den Normalwerten um 112,5 % bedeutet. Die Kernabschwellung erfolgt jetzt wesentlich langsamer als nach 3 Stunden Ischaemie. Gegenüber dem 5. Tage haben die Kerne am 7. Tage nur um 17 % und am 9. Tage um 26,9 % an Masse verloren. Mit einem Durchschnittsvolumen von $1112/\mu^3$ liegen sie am 9. Tage mit 129,8 % noch weit über den Normalwerten mit einem Durchschnittsvolumen von $484/\mu^3$. 1,5 % der Fibroblasten hatten am 5. Tage ein Volumen von 3000 bis $3400/\mu^3$. Ein Blick auf die Verteilungskurven an den verschiedenen Manifestationstagen (Abb. 4-6) läßt erkennen, daß sich mit zunehmender Kernschwellung eine "Rechtsverschiebung" und umgekehrt bei zunehmender Abschwellung eine "Linksverschiebung" einstellt. Nach 4 Stunden Ischaemie zeigten ein Teil der Fibroblastenkerne irreversible Schädigungen wie kernwandhyperchromatose, Zerreißen und zunehmende Auflösung der Kernmembran und schließlich Karyorrhexis.

Besprechung der Ergebnisse

=====

Ein Blick auf die Abb. 2 zeigt, daß die Schwellung des Ohres umso stärker ist, je länger die Ischaemie angehalten hatte. Nach 10 Stunden temp. Ischaemie allerdings ist die Zunahme der Schwellung im Vergleich zu der Verdickung des Ohres nach 4 - 6 Stunden temp. Ischaemie sehr gering. Offenbar ist ein Schwellungsmaximum, das an anderen Organen ebenfalls beobachtet wurde, (HARMANN, ROTTER u. M.) nahezu erreicht. Die gleiche Abhängigkeit von der Ischaemiedauer läßt die Länge der Erholungszeit erkennen, während die Schwellung nach 2 Stunden temp. Ischaemie 24 Stunden nach der Wiederdurchblutung nur noch minimal ist, zeigt sie nach 10 Stunden temp. Ischaemie nach 24 Stunden noch keinerlei Tendenz sich zurückzubilden. Nach 4 - 6 Stunden temp. Ischaemie ist die Tendenz des Gewebes, abzuschwellen, fast genau so groß wie nach 2 Stunden, die Erholungszeit aber beträchtlich länger.

Eine postischaemische Schwellung kann grundsätzlich durch eine Schwellung der Zellen und / oder durch ein interstitielles Oedem erzeugt werden. Das Kaninchenohr enthält eine zarte mediane Knorpelplatte. Zwischen Perichondrium und Epidermis liegt eine zarte Schicht aus lockerem, sehr zellarmen Bindegewebe. Die wenigen in dieser Schicht gelegenen Zellen können, wenn sie anschwellen, eine mit der von uns angewandten Methode meßbare Volumenzunahme des Ohres nicht erzeugen. Die Dickenzunahme des Ohres kann demnach allein durch ein Ödem im interstitiellen-extra-zellulären Raum verursacht worden sein.

Während der der temp. Ischaemie folgenden aktiven Hyperaemie fehlen Oedeme. Hält die temp. Ischaemie jedoch länger an, so geht die aktive Hyperaemie in eine Prästase über (COHNHEIM); die verlangsamte Strömung

in erweiterter Strombahn geht regelmäßig mit einer Permeabilitätsstörung der Kapillarmembranen und demzufolge mit der Exsudation einer eiweißreichen Flüssigkeit in den interstitiellen Raum einher. Nach einer Erholungszeit löst sich die Prästase und geht erneut in eine aktive Hyperaemie über. Jetzt fließen die Oedeme wieder ab. Im Anschluß an sehr lange Ischaemien jedoch geht die Prästase in Stase über, das Gewebe wird nekrotisch (COHNHEIM, POCHIN).

Das postischämische Oedem des Kaninchenohres hat zuerst COHNHEIM beschrieben. Er legte 8 - 10 Stunden lang eine feste Ligatur um die Ohrwurzel und beobachtete nach Lösen der Ligatur Anschwellen des Ohres. Histologisch waren die Gewebemaschen von Flüssigkeit ausgedehnt und mit "Lymphkörperchen" erfüllt. POCHIN (1939/42) fand nach zweistündiger Abklemmung eine flüchtige Dickenzunahme um 20 %, nach 6 Stunden temp. Ischaemie eine Dickenzunahme um 50 %. Nach 18 - 24 Stunden temp. Ischaemie schollen die Ohren um das 2 - 5 fache an. Das Maximum der Schwellung war 2 Stunden nach Lösen der Klemme erreicht. Die Eiweißkonzentration der Gewebsflüssigkeit betrug etwa 5 %, sie sank mit fortschreitender Erholungszeit ab. Wir können die Ergebnisse POCHINS weitgehend bestätigen. Die von uns gemessene Dickenzunahme allerdings ist größer, auch fand sich bei unseren Versuchen das Maximum der Schwellung erst nach 3 Stunden Manifestationszeit.

Ein Vergleich der von POCHIN und von uns am Kaninchenohr erhobenen Befunde mit der postischämischen Schwellung der unteren Extremitäten läßt erkennen, daß die Schwellung bei gleich langer temp. Ischaemie am Kaninchenohr geringer ist als im Bereich der unteren Extremitäten.

Am Kaninchenlauf fand HARMAN an bestimmten Muskeln im Vergleich zur unbeeinflussten kontralateralen Ex-

tremität eine Gewichtszunahme von 20-30 % nach 2 Stunden, von 30-50 % nach 3 oder 4 Stunden temp. Ischaemie. CANZANELLI et. al. beschreiben massive post-ischämische Oedeme an den unteren Extremitäten des Kaninchens, die innerhalb von 2 Stunden nach Lösen der Ligatur auftraten. Die Überlebenszeit der Tiere betrug nach zweistündiger doppelseitiger temp. Ischaemie $3,8 \pm 0,6$ Stunden, nach 5 Stunden temp. Ischaemie $1,74 \pm 0,4$ Stunden. Die in den Extremitäten angesammelte Flüssigkeitsmenge entsprach bis zu 60 % der Gesamtplasmamenge der Tiere. Ähnliche Ergebnisse wurden an Mäusen, Ratten, Meerschweinchen und Hunden erhoben. Nach 12 - 15 stündiger Abklemmung beider Hinterbeine bildet sich bei Mäusen (ROSENTHAL, LILLIE u. TABOR) wie bei Ratten (HAIST u. HAMILTON) in 2 Stunden nach Lösen der Unterbindung ein massives Oedem aus. Die meisten Tiere starben innerhalb weniger Stunden im Anschluß an die Unterbindung. MOORE beobachtete bei Mäusen, deren Hinterbeine 2 Stunden lang abgeklemmt waren schon nach 2 Stunden Manifestationszeit eine Gewichtszunahme um das 1,67 bis 1,84-fache. Das Oedem enthielt Eiweiß, das sich elektrophoretisch in die Fraktionen des Plasmas auftrennen ließ. H.SCHMILT fand bei Meerschweinchen nach zweistündiger Ischaemie eines Hinterbeines innerhalb von 3 Stunden eine deutliche Gewichtszunahme. GREEN u. a. bestimmten das Ausmaß des Oedems im Hinterlauf von Hunden nach 6-stündiger Abklemmung zu $41,3 \text{ ml/kg}$ Körpergewicht. Mikroskopisch fanden sich Rupturen des Sarkolemmis mit Retraktion und Verdrehung der Muskelfasern, die durch die Oedemflüssigkeit auseinander gedrängt waren. LANG, SCHWIEGK u.a. beobachteten am Hinterbein von Hunden nach einer Abklemmzeit von 5 Stunden ein Oedem, das in seiner Menge 30 - 40 % der

zirkulierenden Blutmenge entsprach und in seinem Eiweißgehalt dem des Blutplasmas nahe kam.

Der Umfang der postischaemischen Schwellung ist abhängig von der Gewebstemperatur während und / oder im Anschluß an die temp. Ischaemie.

Bei den Experimenten von MOORE verhinderte sofortige Eiskühlung der abgeklemmten Extremität die Ausbildung des postischaemische Oedems. CANZANELLI, GUILD und RAPPORT fanden nach einer Abklemmzeit von 5 Stunden bei 37°C eine Überlebenszeit der Tiere von 1,2 Stunden. Wurde das Bein sofort nach Lösen der Abklemmung unterkühlt, so verlängerte sich die Überlebenszeit auf 4,3 Stunden. SCHWIEGK u. SCHÖTTLER finden nach 5 Stunden temp. Ischaemie beider Hinterbeine bei Eiskühlung der abgeklemmten Extremitäten die Überlebenszeit von 2 auf 9 und mehr Stunden verlängert. BROOKS und DUNCAN fanden nach temp. Ischaemie am Rattenschwanz genau abzustufende Abhängigkeit des Auftretens von Nekrosen von der Temperatur der Umgebung. PCCHIN beobachtete am 18 Stunden lang abgeklemmten Kaninchenohr bei $31,8^{\circ}\text{C}$ in allen Fällen vollständige Nekrose, bei Zimmertemperatur nur bei 20 % der Tiere teilweise Nekrosen.

Obige Ausführungen legen den Gedanken sehr nahe, daß die im Vergleich zu den Extremitäten offensichtlich geringere Vulnerabilität des Kaninchenohres gegenüber der temp. Ischaemie temperaturabhängig ist. Für diese These sprechen unsere Temperaturmessungen, die zeigen, daß die Temperatur des Kaninchenohres an der Basis etwa 5°C , an der Spitze sogar etwa 7°C niedriger ist als die Rektaltemperatur. Während der temp. Ischaemie sinkt die Temperatur innerhalb weniger Minuten steil ab und hat nach 10 Minuten die Umgebungstemperatur nahezu erreicht. Nach der Wiederdurch-

blutung steigt die Temperatur steil an (reaktive Hyperaemie) und gleicht sich anschließend allmählich der Norm wieder an. Vergleichbare Messungen sind an den Extremitäten von zahlreichen Autoren durchgeführt worden (GREEN, THAUER, CRISPENS, LANG u. SCHWIEGK). Wir geben in der Abb. 1 die Temperaturen wieder, die WALTHER in der Muskulatur des Meerschweinchenoberschenkels mit einem NDT-Halbleiter-Widerstand gemessen hat, der in die Spitze einer Kanüle eingebaut worden war, die in die Muskulatur eingestochen wurde. Ein Vergleich der von WALTHER und von uns aufgezeichneten Kurven zeigt, daß 1.) die Ausgangstemperatur im Oberschenkel des Meerschweinchens etwa der Rektaltemperatur entspricht und daß 2.) die Temperatur während der temp. Ischaemie sehr viel langsamer absinkt als im Kaninchenohr. Das gegenüber dem Oberschenkel unterschiedliche Verhalten des Kaninchenlöffels läßt sich leicht erklären. Der starke Wärmeverlust des dünnen Kaninchenohres mit seiner großen Obrefläche wird im gewissen Umfang durch die Einstellung auf eine geringere Temperatur kompensiert. Während der Ischaemie gleicht sich die Gewebetemperatur der Lufttemperatur aus den gleichen Gründen rasch an.

Damit dürfte kaum mehr zweifelhaft sein, daß die Vulnerabilität des Kaninchenohres gegen eine temp. Ischaemie geringer ist als diejenige der Extremitäten und das diese geringe Vulnerabilität bedingt ist durch seine tiefere Grundtemperatur und den raschen Temperaturabfall während der Ischaemie.

Jedoch lassen sich diese Differenzen exakt quantitativ schwer erfassen. Vergleichende Dickenbestimmungen, so gut wie vergleichende Wägungen der Extremitäten und der Ohr-löffel bzw. der im Gewebe enthaltenen Oedeme stoßen auf erhebliche methodische Schwierigkeiten und müssen von

vornherein erhebliche Fehlerquellen in Kauf nehmen.

Wir haben deshalb einen anderen Weg gewählt, um zu einer exakten Beschreibung der unterschiedlichen Vulnerabilität der Kaninchenohren einerseits und der Extremitäten andererseits zu gelangen.

ROTTER u. Mitarbeiter haben zeigen können, daß der post-ischämischen Schwellung eine vermehrte Wassereinlagerung in die Zellen und in das Interstitium zu Grunde liegt. Im Gegensatz zum interstiellen Oedem läßt sich die Volumenzunahme der Zellen und ihrer Kerne mit dem Okularmikrometer leicht exakt messen. Derartige Versuche allerdings scheitern am Kaninchenohr an der geringen Zahl der im lockeren Bindegewebe enthaltenen Zellen. Wir haben deshalb durch eine Crotonoelinjektion ein an Fibroblasten reiches Granulationsgewebe erzeugt und die Kerne dieser Fibroblasten gemessen. Unsere Ergebnisse am Kaninchenohr konnten wir mit den Messungen vergleichen, die WALTHER an Crotonoel-Granulomen des Meerschweinchenoberschenkels erhoben hat. Diese Methode hat den großen Vorteil, daß wir an verschiedenen Orten ein und denselben Zelltyp vergleichend untersuchen; von diesen Zellen können wir annehmen, daß sie etwa den gleichen Stoffwechsel und damit die gleiche Vulnerabilität besitzen. Zeigen sie jetzt an verschiedenen Standorten gleichwohl eine unterschiedliche Vulnerabilität, so können diese Differenzen nur durch ortsbedingte, nicht aber durch zellbedingte Faktoren verursacht worden sein.

Das Kernvolumen des unbeeinflussten Granuloms nimmt vom 4 bis 9 Tag kontinuierlich, aber nicht linear ab. Die Verteilungskurven zeigen eine zunehmende Linksverschiebung. Die Größe eines Zellkernes ist unmittelbar proportional der Höhe des Stoffwechsels (ÖHLERT). Die funktionelle Leistung der Fibroblasten (Sekretion von Mucopolysacchariden

und Präkollagenen) nimmt mit ihrer Differenzierung fortlaufend ab - dazu parallel die Größe des Kernes. Die Differenzierung des Granulationsgewebes bis zu seinem Ausgang in Narbengewebe ist von WALTHER am Meerschweinchenoberschenkel eingehend beschrieben worden, so daß an dieser Stelle darauf verzichtet werden kann. Ein Vergleich unserer Kurven mit den von WALTHER publizierten Werten zeigt fast vollständige Übereinstimmung. Lediglich unsere Durchschnittsvolumina liegen an allen Tagen etwas tiefer. Die Differenz könnte man darauf zurückführen, daß die Grundtemperatur des Kaninchenlöffels um $5-7^{\circ}\text{C}$ erniedrigt ist. Ferner wäre zu berücksichtigen, daß der Grundumsatz des Kaninchens niedriger ist als beim Meerschweinchen.

Am 4. Tag nach der Crotonoelinjektion klemmten wir das Ohr herzwärts vom Granulom jeweils 2, 3 oder 4 Stunden ab. Die am 5., 7. und 9. Tag nach der Oelinjektion (bzw. am 1., 3. und 5. Tag nach der temp. Ischaemie) durchgeführten Kernmessungen zeigen eine postischaemische Kernschwellung, die umso größer ist, je länger die temp. Ischaemie anhielt. Die Verteilungskurven lassen dementsprechend eine zunehmend starke Rechtsverschiebung erkennen. Nach 2 und 3 Stunden temp. Ischaemie schwellen die Kerne relativ rasch ab. Nach 9 Tagen sind die Werte derjenigen Zellen erreicht, die keiner Ischaemie ausgesetzt worden waren. Nach 4 Stunden dagegen sind die Kerne am 9. Tage noch erheblich geschwollen, die Erholungszeit also stark verzögert. Sinngemäß gleicht sich in den Verteilungskurven die Rechtsverschiebung mit Ausnahme der 4 Stunden-temp. Ischaemie-Werte rasch aus. Die Abb. 8 schließlich verdeutlicht, daß die prozentuale Kernabschwellung nach 2 und 3 Stunden temp. Ischaemie stärker ist als bei den Kontrollen. Sogar nach 4 Stunden temp. Ischaemie schwellen die Kerne bis zum 7. Tag schneller ab als die Kontrollen, bleiben dann aber erheblich zurück.

Ein Vergleich mit den Ergebnissen WALTHERS am Meerschweinchenoberschenkel zeigt wiederum im Prinzip eine weitgehende Übereinstimmung. Beide Experimente lassen erkennen, daß der Umfang der Kernschwellung und die Länge der Erholungszeit abhängig sind von der Länge der vorausgegangenen temp. Ischaemie. Jedoch müßten wir am Kaninchenohr 2 Stunden abklemmen, um annähernd die gleiche Kernschwellung ($1077/\mu^3$) zu erzeugen, die WALTHER nach einer temp. Ischaemie von nur 10 min. Dauer ($1040/\mu^3$) gemessen hatte. Nach 4 Stunden temp. Ischaemie erreichten wir am Kaninchenohr erst eine durchschnittliche Kernschwellung von $1521/\mu^3$. Die "maximale Kernschwellung"^{+) von etwa $1700/\mu^3$, die WALTHER bereits nach 30 min. temp. Ischaemie beobachtete, haben wir selbst nach 4 Stunden temp. Ischaemie noch nicht erreicht. Sinngemäß haben wir auch im histologischen Präparat irreversible Kernveränderungen nur vereinzelt nachweisen können.}
Abschließend kommen wir zu dem Ergebnis, daß interstitielles Oedem und Kernschwellung im Hinblick auf ihren Umfang und auf ihre Rückbildung (Erholungszeit) abhängig sind von der Dauer der vorausgegangenen temp. Ischaemie. Jedoch sind interstitielles Oedem und Kernschwellung bei gleich langer temp. Ischaemie am Kaninchenohr wesentlich geringer als am Oberschenkel. Das gleiche gilt für die Länge der Erholungszeit. Quantitativ ließen sich diese Differenzen der Vulnerabilität bei der vergleichenden Kernmessung exakt erfassen - und zwar setzt eine temp. Ischaemie von 10 min. Dauer am Oberschenkel etwa den gleichen Schaden, den am Kaninchenohr eine temp. Ischaemie von 120 min. erzeugt. Mit Hilfe vergleichender Temperaturmessungen ließ sich nachweisen, daß die erwähnten Differenzen der Vulnerabilität temperaturbedingt sind.

+) Eine stärkere Kernschwellung trat nach einer temp. Ischaemie von 50, 80 und 120 min. nicht auf. Vermutlich platzen die Zellen, wenn sie noch mehr Wasser aufnehmen.

Zusammenfassung

=====

1. Temperaturmessungen am Kaninchenohr zeigen, daß die Grundtemperatur an der Basis des Löffels um etwa 5°C , an der Spitze um etwa 7°C niedriger liegt als die Rektaltemperatur. Im Anschluß an eine temp. Ischaemie sinkt die Temperatur sehr rasch auf die Umgebungstemperatur ab. Im Anschluß an die Wiederdurchblutung steigt die Temperatur schnell über den Ausgangswert an, um sich dann allmählich wieder der Norm zu nähern. Das kontralaterale Ohr zeigt konsensuelle Temperaturschwankungen.

2. Eine Verdickung des Kaninchenlöffels läßt sich signifikant erst nach 2 Stunden temp. Ischaemie nachweisen. Sie wird durch ein interstitielles postischaemische Oedem verursacht. Die Stärke des Oedems und seine Erholungszeit sind abhängig von der Dauer der vorausgegangenen temp. Ischaemie.

3. Kernmessungen an Fibroblasten eines durch Crotonoel erzeugten Granuloms ergeben, daß die Kerne mit zunehmender Differenzierung des Granulationsgewebes kontinuierlich an Größe abnehmen.

4. Nach einer am 4. Tag nach der Crotonoel-injektion erzeugtem temp. Ischaemie von 2, 3 und 4 Stunden Dauer schwellen die Kerne an. Die postischaemische Kernschwellung ist umso stärker, je länger die temp. Ischaemie anhält. Nach 2 und 3 Stunden - nicht dagegen nach 4 Stunden - temp. Ischaemie sind die Kerne am 9. Tage abgeschwollen. Die Erholungszeit ist also ebenfalls abhängig von der Dauer der temp. Ischaemie.

5.) Ein Vergleich mit den Folgen der temp.

Ischaemie an der unteren Extremität läßt erkennen, daß die Vulnerabilität des Kaninchenohres gegen Ischaemie wesentlich geringer ist als diejenige der unteren Extremitäten. Die Differenz ist temperaturbedingt. Die Größe der Differenz läßt sich quantitativ exakt allein durch die Kernmessungen an Granulomen erfassen. Eine temporäre Ischaemie von 10 min. Dauer setzte am Oberschenkel des Meerschweinchens die gleich Kernschwellung, die am Kaninchenohr durch eine temp. Ischaemie von 2 Stunden Dauer erzeugt wird.

Literatur

=====

Brooks, G. u. Duncan, G.W.

The Effect of Temperature on the Survival of
Anemic Tissue. Annals of Surgery 112, 130, 1940

Canzanelli, A., Guild, R. u. Rapport, D.

Tourniquet Shock in the Rabbit.
Amer. J. Physiol. 143, 97, 1945

Cohnheim, J.

Vorlesungen über Allgemeine Pathologie,
Bd. 1, 118, 1882

Green, D.H. u.a.

Ischemic Compression Shock, with an Analysis of local
Fluid Loss. Amer. J. Physiol. 142, 494, 1944

Haist, R.E. u. Hamilton Jean J.

Reversibility of Carbohydrate and other changes
in rats shocked by a clamping technique.
J. Physiol. 102, 471, 1943-44

Harman, J.W.

The Significance of Local Vascular Phenomena in
the Production of Ischemic Necrosis in Skeletal Muscle
Amer. J. Pathol. 24, 625, 1948

Lang, K., Schöttler u.a.

Der Gewebsstoffwechsel bei örtlicher Erfrierung I. u.
Klin. Wschr. 1943, 444, 653

Moore, D.H.

Study of Tissue Extracts and Sera of Mice after
Shockproducing Injuries.
Amer. J. Physiol. 173, 131, 1953

Öhlert, W. u. Schultze, B.

Die Kerngröße als Ausdruck der synthetischen Aktivität
des Kerns. Beitr. pathol. Anat. 123, 101, 1960.

Pochin, E.E.

Oedema following Ischemia in the Rabbits Ear.
Clinical Science 4, 341, 1939-42.

Rosenthal, S.M., Tabor, H. u. Lillie, R.D.

The Local Nature of Acquainted Resistance to Trauma.
Amer. J. Physiol. 143, 402, 1945.

Rotter, W.

Das morphologische Gewebssubstrat bei gestörter
Durchblutung. in "Angiologie" herausgegeben von
M. Ratschow S. 164 - Thieme-Verlag 1959.

Schmidt, H.

Vergleichende Untersuchungen über die ödemverhindernde Wirkung von Blutersatzmitteln im Tourniquet-Schock am Meerschweinchen. Dissertation Marburg 1953.

Schwiegk, H.

Kreislauf und Gewebsstoffwechsel bei der örtlichen Erfrierung. Klin. Wschr. 198, 1944.

Schwiegk, H.

Methode zur fortlaufenden Registrierung der Ödem-bildung am isolierten durchströmten Kaninchenohr. Klin. Wschr. 337, 1944.

Schwiegk, H.

Schock und Kollaps. Klin. Wschr. 741, 765, 1942.

Schwiegk, H.

Kreislaufveränderungen nach Esmarch'scher Blutleere. Klin. Wschr. 477, 1943.

Selye, H.

Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 82, 328, 1953.

Thauer, R. u. Crispens

Fingertemperatur bei Änderung des hydrostatischen Druckes. Pflügers Archiv 261, 470, 1955.

Walther, D.

Die postischämische Schwellung der Fibroblastenkerne im Granulationsgewebe. Beitr. Pathol. Anat. 120, 3, 1959.

Lebenslauf

Am 24. Mai 1933 wurde ich, Volker Unbehaun in Gießen als Sohn des damaligen Assistenzarztes Dr. Gerd Unbehaun und seiner Ehefrau Wiltrud, geb. Nebel von Türkheim geboren.

Die Volksschule besuchte ich in München, die Oberschule in Marienbad, Murnau (Obb.) und Garmisch-Partenkirchen bis zur Reifeprüfung im Juli 1951. Von WS 1951 - SS 1954 studierte ich bis zur ärztlichen Vorprüfung an der Johann-Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt/Main. Dazwischen arbeitete ich als Gedingeschlepper unter Tage auf einer Schachtenanlage im Ruhrgebiet. Das klinische Studium setzte ich an den Universitäten Mainz, Tübingen, Hamburg und Gießen fort. Das Medizinische Staatsexamen beendete ich am 28. Januar 1958 in Gießen. Anschließend war ich Medizinalassistent am Pathologischen Institut der Universität Gießen, am Knappschafts-Krankenhaus Bochum-Langendreer und am Marienhospital Witten/Ruhr. Die Bestallung als Arzt erhielt ich mit dem 15. Juli 1960. Danach war ich Assistenzarzt auf der geburtshilflich-gynäkologischen Abteilung des Marienhospitals Witten. Seit 1. Oktober 1960 arbeite ich am Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Mainz.

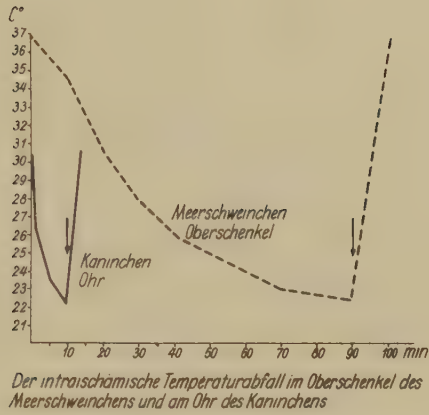
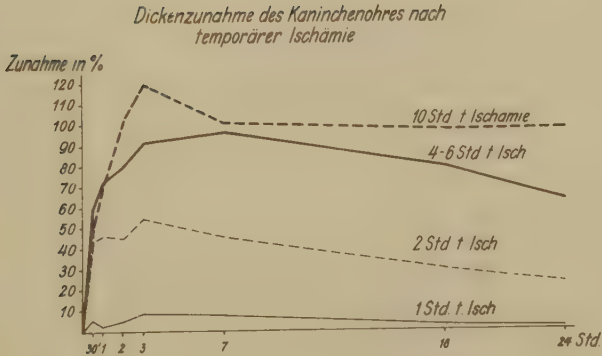


Abb. 1



Abnahme der durchschnittl. Kerngrösse
vom 4-9. Tage nach der Ölinjektion

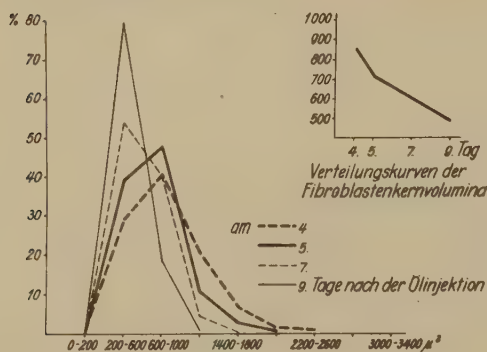


Abb. 3

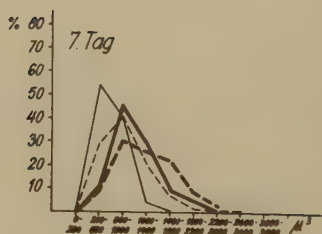
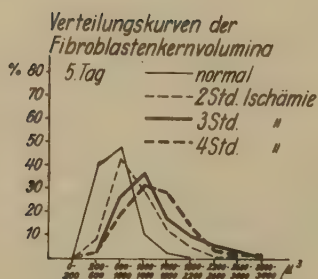


Abb. 4

Verteilungskurven der
Fibroblastenkernvolumina

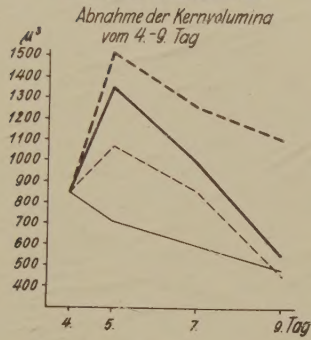
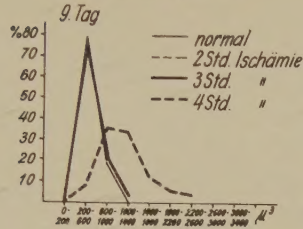


Abb. 5

Prozentuale Kernabschwellung
vom 5.-9. Tag

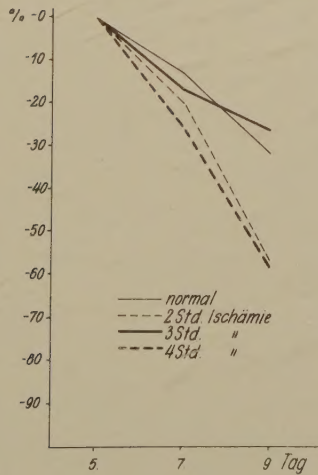


Abb. 6

Fotodruck Frau Elly HUTH Tübingen